

Bioaktive Membransysteme und rezyklierte Plastikverpackungen

BIOHYBRIDMATERIALIEN Zur Entwicklung intelligenter Biohybridmaterialien und Biomimicry-Systeme nutzt das Team um den Chemiker Stefan Schiller am Freiburger FRIAS nicht nur klassisch synthetische Methoden der (Polymer-)Chemie, sondern greift auch zur Synthetischen Biologie.

Seit 2008 forscht Dr. Stefan Schiller an der «School of Soft Matter Research» des vor drei Jahren mit Mitteln der Exzellenzinitiative des Bundes und der Länder eingerichteten «Freiburg Institute for Advanced Studies» (FRIAS). Das vielseitige Interesse des Chemikers an Hybridmaterialien und supramolekularen Systemen aus künstlichen und natürlichen Makromolekülen spiegelt sich in seinem Werdegang. Schon während des Studiums nutzte Schiller ein Austauschprogramm, um bei Prof. David A. Tirrell an der University of Massachusetts in die Polymerchemie biologischer Materialien einzutauchen. Für seine Diplomarbeit machte er sich bei Prof. Horst Kunz an der Universität Mainz mit der schwierigen Synthese und Analytik komplexer Kohlenhydrate und Glykokonjugate vertraut. In seiner Doktorarbeit entwickelte er unter Prof. Wolfgang Knoll am Mainzer Max-Planck-Institut für Polymerforschung künstliche Membransysteme nach biologischem Vorbild. Und den Postdoc-Aufenthalt nutzte der umtriebige Forscher, um in der Gruppe von Prof. Peter Schultz am Scripps Research Institute im kalifornischen La Jolla zu lernen, wie der genetische Code von Zellen erweitert werden kann, damit sich diese zur Synthese von Proteinen mit künstlichen Aminosäuren verwenden lassen.

Systeme mit wohl definierten Molekülen nachbilden

«Wir möchten biologische Prozesse auf molekularer Ebene verstehen und bilden die zugrundeliegenden Systeme zu diesem Zweck mit wohl definierten Molekülen nach», nennt der Junior Fellow den roten Faden durch die vielen verschiedenen Projekte, die er in seiner achtköpfigen Arbeitsgruppe aus Chemikern und Biologen am FRIAS verfolgt. Ein Beispiel sind Doppellipidschichten, die z.B. auf Trägern wie Sensoroberflächen verankert werden können (tethered Bilayer Lipid Membranes, tBLMs) und u.a. dem experimentellen Studium von Membranproteinen dienen. 2009 machten Schiller et al. in der Angewandten Chemie publik, wie sich solche Membranen für das Studium grosser Transmembranproteine optimieren lassen. Ionenkanäle, Transmembranrezeptoren, Transporterproteine, ATP-

abhängige Pumpen und Zelladhäsionsmoleküle sind Beispiele für Proteine, die beide Membranlipidschichten durchspannen und in tBLMs darum einen grösseren Abstand zwischen Membran und Sensoroberfläche nötig machen.

Im Rahmen seiner Doktorarbeit entwarf Schiller Lipo-Glykopolymere, in denen kohlenhydratmodifizierte makromolekulare Abstandshalter für eine geeignete Entkuppungsdistanz von der Trägeroberfläche sorgen. Die Zuckerkomponente gewährleistet die stabile geradlinige Ausrichtung der langen Molekülketten: Eine Idee, die dem Forscher beim Nachdenken über die aus unterschiedlichsten Zuckermolekülen bestehende Schleimhülle von Zellen (Glykokalyx) kam. «Als Schicht auf dem Äusseren der Zellmembran hat die Glykokalyx vielerlei Aufgaben», erklärt Schiller. «Eine davon ist es, einen optimalen Abstand der Zellen untereinander zu garantieren. Das hat mich darauf gebracht, Lipo-Glykopolymere zur Verankerung von tBLMs auf Gold zu entwickeln.»

Synthese neuer Glykolipide und Glykoproteine

Die Themen Glykokalyx und künstliche Membransysteme lassen den Chemiker auch am FRIAS nicht los. «In Zusammenarbeit mit der Gruppe von Professor Carlos Marques, Physiker am Strassburg Charles Sadron Institut, planen wir die Synthese neuer Glykolipide und -proteine. Die Strassburger Kollegen wollen deren Einfluss auf die biophysikalischen Eigenschaften von Membranen studieren. Uns interessieren Fragestellungen zur interzellulären Kommunikation, bei der die Glykokalyx ebenfalls eine entscheidende Rolle spielt. Erkennungsstellen – Epitope – im Zuckerteil von Glykolipiden und -proteinen auf Zellen werden von Rezeptorproteinen auf anderen Zellen erkannt. Das hat Auswirkungen bis in die Zellen hinein. Wir wollen wohl definierte künstliche Membransysteme mit Zellen in Kontakt bringen und die Folgen untersuchen», plant der Gruppenleiter.

Intelligente Materialien

Ein anderer Schwerpunkt ist die Entwicklung intelligenter Materialien für technische und medizinische Anwendungen. Schillers

Crew entwirft z.B. elastische Biohybridmaterialien, die sich von dem natürlichen Faserprotein Elastin ableiten, welches im Bindegewebe von Wirbeltieren vorkommt. Zusammen mit dem ähnlich aufgebauten Strukturprotein Kollagen verleiht es Organen Spannkraft und macht Gewebe reissfest und



Bild: Peiseler-Sutter

reversible verformbar. Der enzymatische Abbau des ansonsten sehr stabilen Elastins geht nicht nur mit einem Funktionsverlust des betroffenen Gewebes einher.

Die peptidischen Abbauprodukte sind zudem bioaktiv und beeinflussen z.B. die Adhäsion und Wanderung von Zellen sowie deren Wachstum, Vermehrung und Tod. Neben Hautalterungsprozessen werden sie mit Herz-Kreislauf- und Krebserkrankungen in Zusammenhang gebracht. Damit gehören Elastin und seine Abbauprodukte zu den komplexen, bisher noch wenig verstandenen Biosystemen, die Stefan Schillers selbsterklärten «Spielraum» herausfordern. «Elastin setzt sich überwiegend aus den hydrophoben Aminosäuren Glycin, Alanin, Valin und Prolin zusammen. Die elastischen Eigenschaften des Proteins lassen sich auf 36 identische, repetitive Einheiten aus je fünf Aminosäuren zurückführen. An der 4. Position können in diesen Pentapeptid-Repeats Eingriffe vorgenommen werden, ohne dass

sich an der Elastizität etwas ändert. Hier führen wir in einem kombinatorischen Ansatz über Sequenzblöcke künstliche Aminosäuren ein, die dem Protein per se zu neuen interessanten Eigenschaften verhelfen oder dessen einfache Derivatisierung und Hybridisierung zulassen, z.B. nach dem von Sharpless eingeführten Konzept der Klick-Chemie. Wir beschäftigen uns auch mit dem Abbau dieser Moleküle und untersuchen die Bioaktivität der Produkte», verrät der Materialforscher.

Die Gruppe hat Kontakt zu Tissue Engineering Experten um Dr. Jürgen Dolderer an der Uniklinik Tübingen, die sich u.a. mit der Rekonstruktion grossvolumiger Weichteildefekte mittels Fettgewebe beschäftigen. Die Tübinger Forscher lassen kleine Mengen blutversorgten, vaskularisierten Fettgewebes



Dr. Stefan Schiller (links) entwickelt Biohybridmaterialien am «Freiburg Institute for Advanced Studies» (FRIAS).

in vivo – d.h. im Schwein – in perforierten Wachstumskammern weiterwachsen. Die finale Form wird dabei von einem Polymergerüst vorgegeben. Später wird das Transplantat verpflanzt. «Die Elastine befinden sich noch im Stadium der Grundlagenforschung. Für die Tübinger Kollegen haben wir zusätzlich bioresorbierbare Stützgerüste auf Milchsäurebasis, d.h. aus Polylactid-co-Glycolid, kurz PLGA, entworfen. Im Optimalfall sollen sie zu dem Zeitpunkt abgebaut sein, an dem das gezüchtete Gewebe das gewünschte Volumen erreicht hat. Daran

müssen wir noch feilen», erzählt Schiller. Um Nachhaltigkeit besorgt, setzt er bei der Herstellung von PLGA anstelle zinnhaltiger Katalysatoren Biokatalysatoren ein. «Wir lassen die Copolymerisation von Milchsäure, Glykolsäure und anderen biologisch zugänglichen Monomeren durch das Enzym Lipase B aus der Hefe *Candida antarctica* katalysieren, welches wir durch neue Arten der Oberflächenimmobilisierung und den Einbau unnatürlicher Aminosäuren funktionell erweitern», sagt der FRIAS-Fellow und verweist auf ein weiteres Schwerpunktthema seiner Gruppe, die Erschliessung und Weiterentwicklung von Enzymen, z.B. für die Polymerchemie.

Biosynthese von Enzymen

Ob Struktureiweise oder Enzyme, bei der Synthese von Proteinen ist die zelluläre Biosynthese chemisch-synthetischen Methoden weit überlegen. Genetische Baupläne für Designerproteine können in Vektoren integriert und in Modellorganismen wie dem Darmbakterium *Escherichia coli* exprimiert werden. Organismen wie *E. coli* können zusätzlich so umprogrammiert werden, dass sie nicht nur artfremde und künstliche Proteine herstellt, sondern in diese auch zusätzlich zu den 20 natürlichen Aminosäuren nicht natürliche Aminosäuren einbauen: Ein relativ neues Forschungsgebiet, auf dem unter dem Stichwort «Erweiterung des genetischen Codes» regelmässig neue Durchbrüche gemeldet werden. Ein Gen ist ein proteindeterminierender Abschnitt auf dem aus Nukleotidbausteinen aufgebauten Erbmolekül Desoxyribonukleinsäure (DNA). Den Nukleotiden sind eine Phosphatgruppe und ein Zuckermolekül gemein, ausserdem besitzen sie eine von vier Basen (Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin bzw. Uracil bei RNA). In der Abfolge dieser Basen ist die Aminosäuresequenz der Proteine festgelegt. DNA fungiert aber nicht selbst als Vorlage bei der Proteinsynthese. Die Proteinbauanleitung wird zunächst in ein Boten-Ribonukleinsäure-Molekül (mRNA) umgeschrieben, welches der zellulären Proteinsynthesemaschinerie, dem Ribosom, als Matrize dient. Jede der 20 natürlichen Aminosäuren wird vor der Proteinbiosynthese von spezifischen Enzymen, sogenannten Aminoacyl-tRNA-Synthetasen, an ein spezifisches Transporter-Molekül (tRNA) geknüpft. Die

beladene tRNA erkennt eine Sequenz von drei Nukleobasen (Codon) auf der mRNA und stellt die von diesem Code verlangte Aminosäure bereit, die daraufhin in die wachsende Proteinkette eingebaut wird.

Um den genetischen Code so zu erweitern, dass an einer vorgegebenen Stelle während der Zusammensetzung des Proteins eine nicht natürliche Aminosäure eingebaut wird, verwendet die Gruppe von Peter Schultz am Scripps Research Institute tRNA/Synthetase-Paare aus Archaeobakterien, die Codons erkennen, für die in *E. coli* keine zugehörige tRNA vorliegt und die hier überhaupt nur selten vorkommen, sodass Kreuzreaktionen ausgeschlossen sind, die das System stören könnten. Die Reste in der Bindungstasche der Synthetase werden durch Mutationen in einem evolutionären Ansatz so verändert, dass anschliessend nicht mehr die natürliche, sondern eine gewünschte nicht natürliche Aminosäure hineinpasst, die dem Kulturmedium zugegeben wird.

Inzwischen wurden diverse tRNA/Synthetase-Paare zum In-vivo-Einbau nicht natürlicher Aminosäuren in Designerproteine entwickelt und in *E. coli* und andere Organismen eingebaut. «Der genetische Code konnte auf diese Weise um eine zusätzliche Aminosäure erweitert werden. Insgesamt wurden so bereits über 30 verschiedene, nicht natürliche Aminosäuren in Proteine eingebaut», weiss Schiller. In der Schultz Gruppe war er an der Entwicklung von tRNA/Synthetase-Paaren beteiligt, die nun am FRIAS zur Anwendung kommen. «Einige sind promiskuitiv und können verschiedene Aminosäuren einbauen, ein Potenzial, das wir derzeit ausloten.» Neben der Entwicklung neuartiger Biomoleküle beschäftigt sich die Gruppe mit deren Verankerung auf diversen Trägermaterialien. Unter dem Motto «Aus Plastikabfall mach Biohybridmaterialien» wurde kürzlich vorgestellt, wie sich auf ausgedientem Verpackungsmaterial wie Polypropylen reaktive Nanostrukturen zur Immobilisierung unterschiedlichster Biomoleküle erzeugen lassen. Die Plasmopolymerisation von Maleinsäureanhydrid liefert dabei in einem Zuge sterile Träger, z.B. zur Herstellung von Biochips oder für Anwendungen im Tissue Engineering.

Beate Peiseler-Sutter

Monitoring im Reinraum
www.deha-gmbh.de



DEHA
 DEHA Haan & Wittmer GmbH
 Keltenstraße 8 · D-71296 Heimsheim
 Tel. (07033) 30985-0 · Fax 30985-29
 E-Mail: deha@deha-gmbh.de